BROTÉRIA

SÉRIE TRIMESTRAL

CIÊNCIAS NATURAIS

SUMÁRIO

Progressos no estudo do centrómero, por A. Câmara.

Sur la caryologie de l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss., par Alberto Gardé.

Datos curiosos en la observación de un mixomiceto, por el P. J. Pujiula.

Bibliografia.

TOMAR 1051

FEVEREIRO

VOL. XX (XLVII) LISBOA FASC. I 1951

Propriedade e edição de
Gaspar Maria Leal Gomes
Pereira Cabral

Fundador: J. S. TAVARES
Director: A. LUISIER

BROTÉRIA

SÉRIE TRIMESTRAL

Composta e impressa na
TIPOGRAFIA "MINERVA"
de Gaspar Pinto de Sousa,
Sucessores, Limitada
Avenida Barão de Trovisqueira
Vila Nova de Famalicão

Redacção e Administração: R. Eugénio dos Santos, 118—Caixa Postal, 364—LISBOA

A. LUISIER, S. J.

MUSCI SALMANTICENSES

Descriptio et Distributio specierum hactenus in Provincia Geographica Salmanticensi cognitarum

Brevi addito conspectu Muscorum totius Peninsulae Ibericae

Un volume de 280 pages, format 260 × 175 mm.

PRIX: 50 ESCUDOS

Avis important: — Tout ce qui concerne la rédaction de cette Série doit être adressé, jusqu'à nouvel ordre, à ***A. Luisier*, Colégio — Caldas da Saúde — Portugal.**

BROTÉRIA

Composta e impressa na Tipografia
«Minerva» de Gaspar Pinto
de Sousa, Sucessores, Limitada
— Vila Nova de Famalicão —

BROTÉRIA

Série trimestral: CIÊNCIAS NATURAIS

Revista fundada em 1902 pelos Professores J. S. Tavares, C. Mendes e C. Zimmermann e premiada com medalha de ouro na Exposição Internacional do Rio de Janeiro, em 1922, e na Exposição do Lyceu de Artes e Offícios da Bahia em 1914. : : : : : :

DIRECTOR: — A. LUISIER

VOLUME XX

(XLVII)

LISBOA

1951

Progressos no estudo do centrómero [1]

POR

A. CÂMARA

(Estação Agronómica Nacional: Sacavém — Portugal)

O centrómero, apesar do papel importante que desempenha na movimentação dos cromosomas, apresenta tais dificuldades à investigação que se tem considerado uma entidade misteriosa da vida celular, com segredos dificilmente desvendáveis para os métodos, recursos e ferramentas actuais da ciência.

Pode afirmar-se, contudo, que trabalhos recentes, empreendidos em várias direcções, mostraram que o estudo da estrutura e funcionamento do centrómero não era tão impenetrável como parecia. E, deste modo, acalentam-se agora algumas esperanças de que a investigação do centrómero se possa efectuar, num próximo futuro, com certo êxito, apresentando-se como campo prometedor a novas e mais intensas explorações.

Acontecendo que uma parte dos trabalhos aludidos se deve a laboratórios da Península Ibérica ou a trabalhadores peninsulares, parece que seria útil que, neste Congresso, se «fizesse o ponto» do que já se contribuiu para o aclaramento de um problema que é justamente considerado como de capital importância para o progresso da citologia.

Foi por este motivo que se elaborou o presente relato do que se conseguiu averiguar, sobre os problemas do centrómero e suas relações com a movimentação dos cromosomas, seguindo-se as três direcções:

1. Observação directa do centrómero em materiais mais favoráveis ou depois de sujeitos a certos tratamentos;

---

(1) Comunicação apresentada ao XX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências, em Lisboa, Outubro de 1950.

2. Análise do comportamento de cromosomas munidos de mais de um centrómero;
3. Estudo dos cromosomas sem centrómero localizado.

Finalmente, ponderando o que se sabe, analisando as directrizes de investigação mais visíveis e supostas mais fecundas, que melhor possam ajudar os progressos no estudo do centrómero, procuraremos antever as linhas de trabalho que mais convenha explorar no futuro.

1. Observação directa do centrómero

Seguindo este rumo destacaram-se principalmente, nos últimos tempos, Lima de Faria (1949 a, b, 1950), trabalhando na Universidade de Lund, e Tjio, trabalhando na Estação Experimental de Aula Dei, em Saragoça, associado com Levan (1950 a, b) do Laboratório de Citogenética de Svälov.

O primeiro, português, interessou-se particularmente pela observação directa dos centrómeros nas paquitenas, servindo-se, como material de estudo, de *Secale cereale* e *Agapanthus umbellatus*. Os outros estudaram os centrómeros dos cromosomas mitóticos, em várias plantas depois de tratamentos prévios com oxiquinoleina.

Lima de Faria observou que nas paquitenas de centeio os centrómeros contêm cromómeros, demonstrando que não há diferenças essenciais entre a estrutura dos cromosomas nos seus braços e nos seus centrómeros. Todo o cromosoma, sem excepção, é constituído por fibrilas ligando cromómeros. Evidentemente, a constituição química ou mesmo a estrutura submicroscópica poderão variar da zona centromérica para a eucromática, mas o facto importante a pôr em relevo é que essa região centromérica não é diversa morfològicamente — para os métodos actuais de observação microscópica — das outras regiões dos cromosomas. (Trata-se, claro está, de cromosomas a que podemos chamar ortodoxos, isto é, de centrómero localizado.)

Lima de Faria, ao considerar um par de cromosomas, divide o centrómero em três zonas: 1) contendo fibrilas que se coram com dificuldade; 2) contendo um par de cromómeros; 3) contendo um par de fibrilas bem coradas; chega ainda à conclusão de que o centrómero tem uma estrutura simétrica, apresentando-se com uma repetição invertida da estrutura apontada, o que se coaduna com a possibilidade de ocorrência do fenómeno bem conhecido da misdivisão.

Por outro lado, investigando os centrómeros de outro material, igualmente propício ao estudo das paquitenas — *Agapanthus umbellatus* — verificou primeiro que a sua estrutura era idêntica à observada nos centrómeros de centeio; depois, aplicando a reacção de Feulgen, mostrou existir ácido nucleico desoxiribose no centrómero. Quer dizer, provou que o centrómero de *Agapanthus* não só possuia a mesma estrutura microscópica dos braços dos cromosomas como continha a mesma espécie de ácido nucleico (Lima de Faria, 1950).

Estas valiosas contribuições suscitam naturalmente o conceito de que existem claros pontos de semelhança, no quadro da observação microscópica óptica, entre o centrómero e os braços dos cromosomas.

Reforça esta suposição o facto de se haverem adquirido já algumas indicações de que é muito possível que os centrómeros contenham genes. Tal ideia, que se deve a Auerbach (1947), resulta de haver verificado, depois de tratamentos de *Drosophila melanogaster* com gás de mostarda, que se origina, com aparecimento de uma mutação semiletal e de esterilidade, uma segregação anormal e hereditária do cromosoma X. Esta caracterizava-se pela tendência excepcional do cromosoma X para a não-disjunção ou ainda para se perder durante a meiose. Segundo esta autora, a mutação da esterilidade, a semiletal, e a da segregação irregular tinham o mesmo *locus*, e parecia que este residia no centrómero. Quer dizer, que, sob a influência do tratamento químico, da acção do gás tóxico, na zona do centrómero se havia operado uma genovariação ou um simples rearranjo estrutural.

A este respeito convém lembrar que os fenómenos bem

conhecidos da não-disjunção espontânea, como foram revelados pela primeira vez por BRIDGES, em trabalho hoje clássico da genética, deviam ser revistos à luz destes conhecimentos. E convém ainda referir que a indução artificial da não-disjunção pode ser um meio de nos aproximarmos deste problema, criando condições adequadas ao estudo mais profundo da possível condição génica do centrómero.

Pensamos que os trabalhos que MOTTRAM (1930 a, b) realizou e aqueles que nós efectuámos (CAMARA e VASCONCELLOS, 1945), provocando a não-disjunção na *Drosophila*, à custa de tratamentos com gás carbónico, elevando consideràvelmente a percentagem de não-disjuntantes, podem ter relações muito próximas com estes conceitos de contrómero que estamos a apreciar. É muito provável que a não-disjunção constitua, em muitos casos, uma demonstração da mutação génica do centrómero. É possível ainda que a formação natural de mosaicos como os ginandromorfos, através da segregação irregular de cromosomas nas primeiras gerações celulares, seja ainda causada pela mutação génica espontânea dos centrómeros nas células somáticas. Enfim, parece que estes aspectos da não-disjunção devem considerar-se, uma vez que ora se começa a erguer ante nossos olhos, com fortes argumentos favoráveis, a concepção do centrómero possuir genes.

Outra bela contribuição, sobre a natureza do centrómero, deve-se, como dissemos atrás a TJIO e LEVAN (1950 a, b) os quais demonstraram, de forma brilhante, recorrendo a tratamentos prévios dos cromosomas com oxiquinoleina, que os corpos centroméricos são dois em cada cromatídeo.

Segundo as suas conclusões, os corpos centroméricos mostram um ciclo de divisão semelhante ao dos cromosomas. E, desde que se apresentam já transversalmente duplos nas profases atrasadas, é lógico admitir que a sua divisão nada tem que ver com o começo da anafase.

O órgão «centrómero» residindo no espaço existente entre os braços do cromosoma, nesse estrangulamento ou solução de continuidade que tanto tem preocupado os cientistas, consta — segundo TJIO e LEVAN — dos corpos centroméricos ligados por fibras, mantidos dentro de uma subs-

tância fraca e difusamente corada. Naturalmente, seria esta substância que mantinha o aparelho centromérico indiviso, até que se iniciasse a anafase. E é muito possível que a acção da oxiquinoleina — ainda obscura, mostrando-se tão diversa das outras substâncias c-mitóticas conhecidas, que não revelaram a estrutura íntima do centrómero — consista em dissolver qualquer substância que iniba a revelação dos pormenores da estrutura centromérica.

Estas contribuições rasgam um pouco a neblina que envolvia os problemas do centrómero. Pelo menos, parecem demonstrar de forma evidente que o centrómero não é uma partícula, uma unidade estruturalmente diversa das outras partes do cromonema, mas apenas uma secção diminuta dele, especializada para a movimentação dos cromosomas.

Enfim, reforça-se a concepção de MATSUURA (1941), que temos partilhado no laboratório de genética da Estação Agronómica Nacional, de que o centrómero não passa de uma «zona regionalmente modificada do genonema» (CASTRO, CAMARA e MALHEIROS, 1949). Parece, pois, que devemos pôr de lado a ideia de que o centrómero era uma partícula de natureza especial, inserida em qualquer parte do cromosoma, e constituindo como que a centralização do comando ou do «contrôle» dos seus movimentos.

2. Análise dos cromosomas munidos de mais de um centrómero

Tem-se reconhecido que um cromosoma dicêntrico, isto é, possuindo dois centrómeros, não pode persistir senão em poucas gerações celulares, tendo necessàriamente de ser solicitado para pólos opostos nas anafases o que conduz à formação de pontes, com rotura subsequente, originando-se dois fragmentos munidos de um centrómero.

Conhecem-se numerosos casos, em variadíssimos materiais, de cromosomas sintetizados após tratamentos de raios X que provam ser acertada tal conclusão.

Também se sabe que através de «crossing-over» em inversões ou certas duplicações se podem originar dicêntricos. McClintock (1939, 1941), provou-o largamente no milho, mostrando que estes dicêntricos se submetem a pontes anafásicas que por sua vez se rompem, iniciando o ciclo de rotura-fusão-ponte; este ciclo persiste, através das gerações celulares até que se dê a cicatrização dos extremos cortados.

Cromosomas munidos de dois centrómeros e transmissíveis, geralmente intactos, os primeiros que se conhecem, na história da genética, são os T-cromosomas.

Nesses casos, estudados por Kattermann (1939), Prakken e Müntzing (1942), Östergren e Prakken (1946), referem-se a cromosomas observados no centeio, em certas linhas, que foram submetidas a autofecundações sistemàticamente repetidas, os quais mostram possuir, além do seu centrómero ordinário, normal, um outro que eles dizem ser terminal, de aí a designação dada por Kattermann de T-cromosomas, localizado no extremo do braço mais curto. Este fenómeno observava-se durante as primeiras metafases meióticas, em número variável de 1 a 6 bivalentes.

Fenómeno muito semelhante foi o estudado por Rhoades e Vilkomerson (1942) no milho, em certas plantas homozigóticas para uma anormalidade do 10.º cromosoma. Segundo eles, esses cromosomas manifestam a existência de centrómeros secundários, muito perto dos extremos dos cromosomas, enfim com toda a aparência de centrómeros terminais, ligando-se às fibras do fuso.

A frequência destes T-cromosomas era alta nas plantas homozigóticas para a tal anomalia do cromosoma 10, variação que consistia em possuírem um excesso de cromatina na parte distal do braço mais comprido — e era relativamente baixa nas plantas heterozigóticas. É curioso fazer notar que o fenómeno se confinava apenas às duas divisões meióticas, embora os centrómeros secundários se mostrassem particularmente enérgicos, deslocando-se para os pólos antes dos centrómeros primários.

É interessante ainda notar que Rhoades observou que,

na ausência dos centrómeros primários, já se não vêem indícios de funcionamento dos secundários. Entretanto — outro facto a ponderar — a fertilidade das plantas, denotando esse fenómeno dos centrómeros secundários, ou dos «secondary centric regions» como lhes chamava RHOADES, apresentava-se considerável, ao contrário do que era lícito esperar, verificando-se, em ambas as divisões meióticas, uma muito regular segregação cromosómica.

Outros exemplos se conhecem da existência de extremos activos dos cromosomas. HUGHES SCHRADER (1943) apontara esse facto em várias espécies de *Mantidae*, e RIBBANDS (1941) notara já antes que os extremos dos cromosomas dos Dípteros têm grande semelhança com os centrómeros. Pode mesmo dizer-se que cada extremo de cromosoma é aparentemente um «aprendiz» de centrómero.

Estes casos têm sido largamente discutidos. Há quem se incline para a formação dos centrómeros secundários a partir dos centrómeros primários, quer dizer, pela translocação de um centrómero ou de uma porção de centrómero, mantendo-se, por conseguinte, fiéis aos princípios postulados por NAVASHIN (1932) de que os centrómeros não se podiam produzir *de novo*, e que não perderiam as suas propriedades no decurso da evolução. Mas há também — e esta facção parece ir adquirindo cada vez maior número de adeptos — quem se incline, francamente, para o conceito contrário, de que é possível produzirem-se novos centrómeros.

Neste ano de 1950, na reunião de Genética que se efectuou em Madrid, apresentámos em nome de SEARS e CAMARA um estudo sobre cromosomas dicêntricos no trigo.

Tratava-se de um caso curioso, de um dicêntrico descoberto por SEARS em 1946, na descendência de um monosómico de *Triticum vulgare*. Segundo as suas palavras, na breve nota presente à Sociedade Americana de Genética, este dicêntrico, em que lhe parecera de começo haver um centrómero mediano e outro terminal, passava usualmente invariável através das divisões meióticas e mitóticas.

Este dicêntrico, provindo de um isocromosoma VII —

segundo a terminologia de Sears para os seus nulisómicos — apresentava-se com características tão interessantes que foi sujeito a uma observação mais cuidada por aquele autor e por quem subscreve estas linhas. A *Genética Ibérica* de 1950 (2.º tomo) incluirá a primeira descrição desse trabalho. Um escrito mais pormenorizado, com maior documentação fotográfica, virá a lume em breve numa revista norte-americana.

Em primeiro lugar, conseguimos provar que este dicêntrico não era um T-cromosoma — como se poderia julgar de começo, — que o seu centrómero secundário era definitivamente subterminal. Embora o segmento distal fosse extremamente curto, e por isso tivesse passado desapercebido nas primeiras observações, era suficientemente claro para não deixar dúvidas.

Este dicêntrico apresenta-se com uma configuração muito característica, nas metafases da 1.ª divisão meiótica, em regra deslocando-se para fora da placa — só num único caso em vasto material observado se pôde ver o dicêntrico ao mesmo nível dos bivalentes. Sempre, em todas as circunstâncias, este bivalente orienta o centrómero primário ou principal para o pólo mais próximo, dirigindo o secundário para o outro.

Pareceu evidente que o centrómero primário era o mais forte, uma vez que era ele que arrastava primeiro o cromosoma. E pareceu assim, desde logo, compreensível que a diferença de valências dos centrómeros é que justificava a possibilidade deste dicêntrico ser muitas vezes transmitido intacto através das gerações celulares. Claro que se ambos fossem igualmente enérgicos submeter-se-iam a solicitação simultânea para os pólos opostos, operando-se sempre na região intermédia — a que chamámos intercentromérica — inevitáveis roturas.

Certamente, em bastantes casos, a tensão entre os dois centrómeros é suficientemente violenta para que se dê o rompimento desta região, originando-se tipos derivados do dicêntrico de dimensões muito diversas, munidos ou do centrómero primário ou do secundário.

Em plantas provenientes de cruzamentos de plantas normais, portadoras de dois cromosomas VII, com plantas monossómicas em que o cromosoma VII era o dicêntrico, pôde observar-se o emparelhamento deste dicêntrico com o cromosoma VII na parte evidentemente em que havia homologia. Como se sabia que o dicêntrico derivava de um isocromosoma, obtido a partir do braço mais curto do cromosoma VII, era de esperar, como de facto se verificou, que o emparelhamento se desse entre o maior braço dicêntrico — aparentemente normal — e o referido braço mais curto do VII. Contudo, em relação ao segmento intercentromérico — que deveria ter também parte da constituição do mesmo braço do cromosoma VII — nenhuma conclusão positiva se logrou tirar. Esse segmento era muito curto para se poder tomar como um braço intacto. Nas células somáticas das radículas, as proporções relativas das várias regiões do dicêntrico eram aproximadamente de 3:1:0,1. Depois, a ajuizar pelo comportamento do dicêntrico nas diaquineses — a fase mais atrasada que pôde estudar-se — parecendo que ele emparelhava consigo mesmo, em certa extensão, julgou-se que era apenas parte desse braço do cromosoma VII, e mesmo assim havendo sofrido uma inversão.

Isto mostra imediatamente que nos encontrámos em sérias dificuldades para encontrar uma explicação da origem do dicêntrico que fosse inteiramente plausível. A justificação mais simples que nos apareceu foi de que o isocromosoma original se rompera pelo centrómero, dando-se ao mesmo tempo uma inversão de um dos braços, a qual arrastaria para uma posição subterminal um fragmento do órgão centromérico.

Esta explicação, porém, não satisfaz cabalmente. Em primeiro lugar, não se compreenderia como um centrómero podia ser assim mais enérgico que outro; por este mecanismo colhe-se a ideia de que ambos seriam de igual valência, pelo menos, para o que presentemente se sabe acerca da constituição dos centrómeros. Depois não se justificaria que a zona intercentromérica fosse tão curta.

Outra explicação que se considerou foi que se teria veri-

ficado uma rotura num dos braços do citado isocromosoma. Seguidamente, operando-se a fusão dos extremos cortados, operar-se-ia um dicêntrico. Mas tinha de se admitir que nova rotura se verificasse num dos braços livres do dicêntrico, justamente em zona muito vizinha de um centrómero, para que ele ficasse com a configuração que encontrámos.

Também esta hipótese está longe de convencer, pois em primeiro lugar não parecem muito naturais as roturas seguidas em braços normais de cromosomas, sem estarem sujeitos a qualquer tensão. Depois não se explicaria porque um centrómero é forte e outro fraco, e, finalmente, ficaria ainda um ponto obscuro por esclarecer, é que desse modo o extremo do cromosoma, junto do centrómero secundário, não cicatrizaria imediatamente e então proporcionaria nova fusão com o fragmento destacado.

Ainda outra hipótese, que se poderia formular, consistiria em que o isocromosoma se romperia pelo centrómero, talvez quando um dos seus braços se enrolasse sobre ele, produzindo assim uma inversão, nesse mesmo braço, e levando para uma posição subterminal o meio centrómero. Quer dizer que de um lado teríamos um meio isocromosoma e do outro um fragmento com meio centrómero intercalado entre um curtíssimo segmento e a parte restante do braço VII. O meio isocromosoma reconstituir-se-ia e o outro fragmento dividindo-se iria soldar os extremos recentemente cortados — justamente no topo da parte mais longa. Assim este fragmento munido então de dois meios centrómeros seria sujeito a tensão, por solicitação simultânea para os dois pólos, e acabaria por se romper, criando novamente extremos susceptíveis de fusão imediata. Claro que, neste caso, o rompimento poderia dar-se a níveis diversos, inclusivamente muito próximo de um desses meios centrómeros. Ora se o isocromosoma fosse sujeito novamente a misdivisão, poderia acontecer que uma das suas metades se soldasse com um daqueles fragmentos, criando então o dicêntrico que examinámos. Mas também estas suposições não nos satisfazem porque o processo é complicado, porque não sabemos se é possível haver essa fusão de um meio isocromosoma, após a misdivi-

são e ainda porque desta forma continuaria a não se explicar capazmente diferença de valências dos dois centrómeros. Teria de se admitir que o centrómero mais próximo do extremo era menos enérgico, mas nada nos diz que essa suposição se apoie em factos concretos bem conhecidos.

Em suma, nenhuma das explicações consideradas nos satisfaz. E, no entanto, não há dúvida que o dicêntrico existe, que foi obtido a partir de um isocromosoma VII, que a zona intercentromérica é curta, e que o centrómero secundário é mais fraco que o primário.

Ora uma vez que se verifica a tendência no meio citologista para não admitir mais a produção dos T-cromosomas, tanto do centeio como do milho, por fenómenos de translocação, supondo antes que o centrómero secundário nasce por mutação, talvez seja a maneira mais simples de compreender a produção do referido dicêntrico do trigo, que temos discutido, através também de uma mutação desse género.

Demais quer-nos parecer que são muito semelhantes o caso que estudámos e os T-cromosomas. A ajuizar pelos próprios desenhos dos autores, que têm estudado esses cromosomas, muito similares a alguns que fizemos do nosso dicêntrico, iríamos mesmo avançar que eles não têm centrómero terminal, como se imagina, mas justamente subterminal como nós provámos para o caso do *Triticum*.

Naturalmente teríamos de admitir primeiro uma delecção num dos braços do isocromosoma original. E logo teríamos de aceitar que uma mutação geradora de centrómero se havia verificado, junto do extremo desse braço encurtado. Para se ajustar aos factos, teríamos ainda de conceber essa mutação como sendo de um alelo ou de alelos de ordem inferior em relação ao gene ou genes do centrómero principal.

Enfim, ainda neste problema que encarámos, da formação de dicêntricos, chegámos à conclusão de que é de reforçar o conceito de que o centrómero não é uma entidade estruturalmente diferenciada da restante parte dos cromosomas, mas apenas um segmento do cromosoma especializado para uma função definida.

3. Estudo dos cromosomas sem centrómero localizado

Ainda neste capítulo, alguns investigadores da Península forneceram contribuições apreciáveis. Um grupo de investigadores da Estação Agronómica Nacional, de Portugal, pôde atacar este problema, servindo-se de um material particularmente favorável a *Luzula purpurea*. Esta planta, observada pela primeira vez por MALHEIROS e CASTRO (1947), durante os trabalhos de rotina laboratorial, a que se tem procedido para a contagem de cromosomas das espécies da Flora portuguesa, passou a merecer a atenção de vários investigadores, assim que se reconheceu possuir cromosomas de centrómero não localizado.

Como era a primeira planta superior que denotava tais características, pode calcular-se o interesse que despertou, não só no nosso laboratório mas em muitos laboratórios da Europa e da América.

Pela nossa parte, fomos efectuando diversos estudos, seguindo diferentes direcções, procurando-se naturalmente juntar a maior soma possível de conhecimentos sobre estes tipos de cromosomas, tão diversos dos cromosomas ortodoxos.

Como se verá neste Congresso, algumas das comunicações presentes tratam justamente de certos aspectos dos trabalhos em curso.

Embora relativamente recente, a investigação do problema dos «cromosomas sem centrómero localizado», como pode apreciar-se na *Luzula*, e embora sejam relativamente poucos os observadores — demais absorvidos por outros trabalhos — lutando ainda por cima com grandes dificuldades, com a falta de estufas e outras instalações que assegurem as melhores condições de êxito ao estudo citogenético desta planta, a verdade é que, mesmo assim, se têm publicado bastantes escritos com elementos novos de apreciação desse assunto tão fascinante que é o dos «cromosomas sem centrómero localizado». Acerca desses trabalhos, o investigador sueco ÖESTERGREN (1949) dizia o seguinte:

«One of the most sensational events in cytology in recent years was the discovery (MALHEIROS and CASTRO, 1947; MALHEIROS, CASTRO and CAMARA, 1947; CASTRO, CAMARA and MALHEIROS, 1949) of the existence of a diffuse centromere in a plant genus, viz. in *Luzula*. The species in which this was first found and where it is most easily studied is *L. purpurea* Link. This species differs from most species of the genus by the fairly big size of its chromosomes (length at somatic mitosis ca. 6 μ; MALHEIROS, CASTRO and CAMARA, l. c.) and by the fact that its chromosome number is as low as n = 3.»

Este citologista, atraído pelo interesse da *Luzula*, procedeu à investigação da sua mitose e meiose, confirmando, na quase totalidade, as conclusões dos portugueses. Idênticas confirmações se devem a outros cientistas (BERGER, 1949). E sabemos que em vários laboratórios se encetaram trabalhos sobre outras espécies de *Luzula*, havendo já uma contribuição valiosa de NORDENSKIÖLD (1950) apresentada no recente Congresso de Botânica de Stockholm — dando alguns resultados de cruzamentos entre espécies poliplóides de *Luzula*.

Nesta rápida revisão que pretendemos fazer, não iremos entrar na apreciação dos fenómenos peculiares da meiose da *Luzula*, como temos descrito, — o que ficaria deslocado na presente discussão — mas apenas apresentar os factos que nos parecem mais curiosos para a apreciação do problema dos *cromosomas sem centrómero localizado*.

Como é notòriamente sabido os pioneiros no estudo dos cromosomas não ortodoxos, queremos dizer, cromosomas diferentes, sob o ponto de vista da sua movimentação no fuso, dos cromosomas munidos de um centrómero localizado, foram SCHRADER (1931), HUGHES-SCHRADER (1931) e o citologista brasileiro TOLEDO PIZA (1939).

Os primeiros inclinaram-se para aceitar um cinetocoro de natureza difusa. O último, para o seu material, que teve ensejo de descobrir e trabalhar, um magnífico material de estudo, o escorpião brasileiro *Tityus bahiensis* (também só com três cromosomas de grandes dimensões, muito seme-

lhantes em aspecto aos da *Luzula*), vendo como os cromosomas dirigiam sempre os extremos para os pólos durante a anafase, foi de parecer que tinham dois centrómeros terminais.

A primeira demonstração experimental dada sobre a existência de um centrómero difuso deve-se a Hughes-Schrader e Ris (1941) que irradiaram machos e fêmeas de *Steatococcus*, originando grande fragmentação de cromosomas. Verificaram eles que depois todos os fragmentos se deslocavam para os pólos como se fossem providos de centrómero.

Em 1948 o grupo português que se dedica aos estudos de *Luzula*, fez uma demonstração similar (trabalho presente ao Congresso de Genética de Stockholm e publicado na *Genética Ibérica*) mostrando que nenhum fragmento provocado pelos raios X se perdia, deslocando-se todos para os pólos, procedendo enfim mitòticamente como se se tratasse de cromosomas normais possuidores do seu centrómero.

Também o material de *Tityus bahiensis* foi sujeito a irradiação. Rhoades e Kerr (1949) — este último citologista brasileiro — afirma que no *Tityus*, após a irradiação, se vêem também os cromosomas fragmentados irem para os pólos nas anafases meióticas, como sucede com os cromosomas inteiros.

Naturalmente, uma vez que o género *Luzula* é rico em espécies, houve logo a intenção, no nosso laboratório, de estudar a sua cariologia, procurando ver se nessas espécies existiam as mesmas características que havíamos estudado na *Luzula purpurea*.

Malheiros e Gardé (1947) e Noronha Wagner (1949) procederam a contagens cromosómicas em várias espécies, encontrando formas 4n, 8n e 12n, e verificando que os seus cromosomas se apresentavam da mesma maneira que os da *Luzula purpurea*. Confirmou-se assim a hipótese sugerida por Malheiros, Castro e Camara (1947) de que o comportamento cromosómico de todas as Juncáceas era possìvelmente igual ao da *Luzula purpurea*.

Perante a circunstância, que nos parecia já indiscutível,

dos cromosomas no género *Luzula* não possuírem um centrómero localizado e antes o cromosoma inteiro mostrar em toda a sua extensão actividade centromérica, sentimo-nos induzidos a discutir, no nosso laboratório, quais poderiam ser os processos seguidos na Natureza para a obtenção da poliplóidia neste género.

Naturalmente aceitavamos a poliplóidia pelos métodos já conhecidos. E é possível que a indução artificial de duplicação cromosómica da *Luzula purpurea* pela colchicina, agora descrita (Sampayo, Castro e Malheiros, 1950, no prelo), seja a confirmação dessa possibilidade.

No decurso de um estudo sobre a diferenciação dos núcleos nos grãos de pólen de *Luzula purpurea*, Ferreira de Almeida e Sampayo (1950, no prelo), verificaram a existência de grãos de pólen portadores de dois núcleos geradores. A existência de micrósporos binucleados sugeriu ao primeiro dos autores uma nova hipótese, para explicar a poliplóidia no género *Luzula*, baseada na possibilidade de formação de indivíduos provenientes da fusão de gâmetas binucleados.

As dimensões dos cromosomas dos poliplóides resultantes seriam reajustadas quer pelo novo equilíbrio nuclear-citoplasmático alvitrado por Sampayo, Castro e Malheiros-Gardé, quer pela existência de um agente regulador como adiante se sugere. Esta hipótese, baseada em factos verificados, tem o mérito de não admitir as críticas que se tornam possíveis em outras que temos analisado.

Certamente, quando os cromosomas são ortodoxos, munidos de um centrómero localizado, não pode admitir-se que a duplicação da guarnição cromosómica resulte de uma simples fragmentação dos cromosomas existentes. Enfim, um tetraplóide não pode derivar, nesses casos, de um diplóide, por rotura de todos os seus cromosomas. É evidente que, desse modo, os fragmentos acêntricos perder-se-iam. E o indivíduo resultante, se fosse viável, o que é claramente utópico dadas as deficiências drásticas, que tinham ocorrido, continuaria a possuir constituição diplóide.

Mas isto que é verdade nas espécies com cromosomas de centrómero localizado, pode deixar de o ser nas outras, como

a *Luzula*, em que todos os fragmentos se conservam, visto que a actividade centromérica, como atrás dissemos, se manifesta ao longo de todo o cromosoma. Significam estas palavras que um diplóide poderia assim originar um tetraplóide, por simples bipartição a meio de todos os cromosomas. Igualmente, o diplóide poderia originar o hexaplóide, e todas as outras séries poliplóides existentes, por um processo idêntico, tudo resultaria do número de roturas que se verificassem nos cromosomas.

Para este género de evolução cromosómica que era lógico admitir depois que se conhecia a natureza dos cromosomas da *Luzula*, e se verificava com a crescente poliplóidia uma aparente e progressiva diminuição de comprimento dos cromosomas, inclinaram-se favoràvelmente Malheiros e Gardé (1947). Mais tarde, Noronha Wagner (1949), conquanto não contestasse totalmente a validez da hipótese, enunciou algumas razões que dificultam a sua aceitação, pelo menos sem algumas modificações.

Deverá dizer-se que temos sido nós próprios, no laboratório, que temos fomentado, entre os nossos companheiros de trabalho, o aparecimento de correntes diversas de opinião, a fim de com uma discussão construtiva se rasgarem horizontes mais largos e se abrirem constantemente novas e mais fecundas perspectivas de investigação.

Pode dizer-se que, neste caso, todos ficámos fortemente impressionados com o facto do comprimento e espessura dos cromosomas variarem na razão inversa do seu número. Claro que esta regra não é absolutamente rigorosa, mas há que reconhecer que se verifica em larga escala. De modo grosseiro pode dizer-se que os cromosomas das *Luzulas* 4n são metade do comprimento dos cromosomas da *Luzula* diplóide, e que os das *Luzulas* 8n são aproximadamente 1/4 dos dela.

Do mesmo modo chamou vivamente as nossas atenções a circunstância dos cromosomas serem, em muitos casos, de iguais dimensões para cada espécie.

Recentemente, Nordenskiöld (1950) procedeu a um inventário cariológico no género *Luzula*, observando cerca de

30 espécies. Metade do número estudado era 4n. Como espécie diplóide só pôde observar a nossa *Luzula purpurea*.

Esta investigadora ficou igualmente impressionada com a progressiva redução de dimensões dos cromosomas à medida que aumenta o grau poliplóide. Segundo as suas palavras:

«There seems to be a certain relationship between the number of chromosomes and the size of them in different species. When the number of chromosomes is doubled from 12 to 24 the length of the chromosomes is reduced to about half the standard length.»

Claro que a produção súbita, explosiva, cataclísmica, das espécies tetraplóides por simples e exclusiva bipartição dos cromosomas da espécie ou espécies diplóides não é de aceitar. Em primeiro lugar, o número de espécies 4n teria possìvelmente de ser igual ao das espécies diplóides. Ora até à data só se conhece como diplóide a *Luzula purpurea*. Poderia argumentar-se dizendo que as outras diplóides se extinguiram, mas seria uma afirmação sem qualquer base, que nada convenceria.

Demais, pelo que sabemos, ao romperem-se os cromosomas enquanto se não criassem as condições favoráveis à cicatrização dos seus extremos, possìvelmente à formação de novos telómeros nos extremos recentemente rotos, assistir-se-ia forçosamente a uma série de fusões que, provàvelmente, nos casos mais viáveis, acabariam por reconstituir a organização original diplóide. Teria, por conseguinte, de haver novas roturas, com possíveis novas fusões, até que chegasse o momento da cicatrização e assim a possibilidade dos novos cromosomas, resultantes da bipartição, terem existência assegurada. Mas é compreensível que através deste processo se dariam inevitàvelmente muitos rearranjos estruturais.

De forma se admitirmos a poliplóidia produzida pelos processos já conhecidos, aceitamos a hipótese da fragmen-

tação cromosómica, pela primeira vez posta por MALHEIROS e GARDÉ, a que eles chamaram depois *agmatoplóidia* (1950), também compreendemos que se lhe têm de pôr as restrições lembradas por NORONHA WAGNER (1949) e por MALHEIROS e GARDÉ (1950).

Ainda julgamos pertinente uma observação de NORONHA WAGNER, de admitir que a evolução no género *Luzula* se pudesse fazer como no género *Crepis*, partindo dos números mais elevados da série poliplóide para os mais baixos. Na realidade, como que a confirmar este juízo, mostrámos que os cromosomas da *Luzula* possuem uma extraordinária tendência para a fusão (CASTRO, CAMARA e MALHEIROS, 1949).

Circunstância que parece muito curiosa é os cromosomas serem por via de regra de dimensões muito semelhantes, dentro de cada espécie. NORDENSKIÖLD notou o mesmo, apenas observando a presença simultânea de diversos tipos de cromosomas em formas aneuplóides. Só muito raramente as pôde ver em euplóides, facto que ela interpretou como sendo um claro indício da origem híbrida dessas espécies. Tal era o caso da *Luzula arcuata* com 36 cromosomas, dos quais 12 eram do tipo A (isto é, com o comprimento igual a 1/2 dos cromosomas da *Luzula purpurea*) e 24 do tipo B (1/4 dos cromosomas da *L. purpurea*). Confirmava-se esse seu ponto de vista, sobre a possível origem híbrida, com os cruzamentos que efectuou, como *L. campestris* × *L. sudetica* e *L. pallescens* × *L. sudetica*, quando os progenitores femininos eram de 6 cromosomas A e os masculinos de 24 cromosomas B. Pôde observar claramente nas metafases de primeira divisão meiótica da F_1, que os 6 cromosomas A não emparelhavam entre si mas emparelhavam com vários dos pequenos cromosomas B. Os restantes pequenos cromosomas que se não ligavam aos maiores ficavam como univalentes.

Esta conclusão mostra que alguns cromosomas B provinham dos cromosomas A, como se previa através daquela hipótese atrás enunciada. Mas mostra também que outros B tinham origem diversa. Enfim, parece que basta só esta indicação para imediatamente reconhecermos que o mecanismo da poliplóidia no género *Luzula* não é tão singelo como se

poderia supor, perante os dois factos citados: 1) correlativa diminuição de dimensões dos cromosomas com a crescente poliplóidia; 2) a extraordinária constância das dimensões dos cromosomas dentro de cada espécie.

Este último aspecto deve merecer mais detidas atenções, pois quer-nos parecer que ele não é mais do que resultante da própria constituição dos cromosomas, de não estarem providos de centrómero localizado. A mesma flagrante semelhança se encontra na maioria dos outros casos similares estudados, como no *Ascaris megalocephala*, no *Tityus bahiensis*, nos *coccideos*, *Heteroptera* e *Homoptera*.

Deve resultar da própria mecânica do fuso, que obrigará, uma vez que os cromosomas não dispõem do «contrôle» de um centrómero, a terem sensìvelmente a mesma massa, para que exista um equilíbrio das forças que intervêm na movimentação dos cromosomas.

Enfim, por este modo de ver, teremos de admitir que, assim haja num indivíduo cromosomas de dimensões diversas, como no caso das *Luzulas* aneuplóides ou no das *Luzulas* híbridas, terá de se dar uma série de variações estruturais entre eles até que se restabeleça a uniformidade de dimensões dos cromosomas. Como se poderão originar tais variações? que processo de rearranjo se adoptará? são as perguntas que naturalmente se suscitam. Mas é evidente que esse assunto terá de ser cuidadosamente investigado antes de nos podermos pronunciar. Quer-nos parecer, porém, pela extrema regularidade que se verifica, que estamos dentro da razão, prevendo a existência de um mecanismo regularizador das dimensões destes cromosomas sem centrómero localizado.

Quando se compara o procedimento dos cromosomas ortodoxos com os de «centrómero não localizado», reconhecendo que os primeiros representam um aperfeiçoamento sobre os segundos, naturalmente somos induzidos a acreditar que os cromosomas primitivos seriam estes últimos.

Assim o pensavamos já em 1949 (Castro, Camara e Malheiros). Mais tarde, essa ideia apoiada pelas nossas dis-

cussões e pela observação de outros factos foi ganhando mais solidez. Castro escrevia em 1950:

«Parece-nos muito mais lógico admitir que uns cromosomas que se podem fragmentar, sem com isso aparentemente nada sofrerem, estariam em muito melhores condições de se adaptarem a todos os meios, e a fazer variar mais ràpidamente as espécies, através das conturbadas eras geológicas, do que os cromosomas com um elevado grau de especialização, como são os ortodoxos. Além disso é o tipo de cromosoma de centrómero localizado o mais comum na Natureza e se assim acontece é porque o mecanismo da evolução o favoreceu em detrimento de outros que porventura existissem.»

Devemos lembrar, no entanto, que, possìvelmente, o número de casos de plantas e animais com cromosomas sem centrómero localizado, é mais elevado do que se cuida. Sòmente nem sempre será fácil reconhecer as características desses cromosomas. Para o conseguir era preciso que eles fossem de dimensões consideráveis e em pequeno número; caso contrário a observação torna-se difícil e aleatória. É muito provável que se ao estudarmos a *Luzula,* por exemplo, só examinássemos formas octoplóides, ainda hoje estivéssemos na ignorância de que os seus cromosomas eram sem centrómero localizado. Muito antes de nós já outros citologistas haviam observado cromosomas de *Luzulas* 4n, 6n, 8n, 12n, e 24n, sem se aperceberem das suas peculiaridades. Por isso, convencemo-nos que se fizermos uma revisão de muitas das espécies já estudadas, olhando com cuidado os desenhos apresentados pelos citologistas e prendendo mais a atenção às figuras que não mostrem claramente constrições, é muito possível que novos casos de cromosomas deste tipo se encontrem.

Mas de toda a maneira, apesar dessa possibilidade, e até probabilidade não podemos ter ilusões, estes casos são sem dúvida excepcionalíssimos em relação à esmagadora massa dos casos de cromosomas ortodoxos.

Sucede que nenhum dos indivíduos, que possui cromosomas deste tipo, constitui um grau avançado da evolução. Assim, desde logo, não parece que estes cromosomas representem um progresso ou aperfeiçoamento em relação aos cromosomas ortodoxos. Se o fossem, significando um avanço na organização do cromosoma, era lógico que aparecessem nas espécies consideradas mais evoluídas, o que não sucede, como é sabido.

Ora, se o centrómero não é uma entidade estruturalmente diversa do resto do cromonema, mas sòmente uma zona, idêntica morfològicamente às restantes (tanto quanto permite a observação microscópica actual) especializada para certas funções, é intuitivo pensar que o ponto de partida da evolução fosse aquilo que não tinha especialização alguma: — isto é, o cromosoma sem centrómero não localizado deveria preceder o de centrómero localizado.

Se esta concepção é verdadeira e se o centrómero resulta de uma mutação, ou melhor de um encadeamento de mutações, como já previa Castro (1950), então é crível que um cromosoma de centrómero não localizado se possa converter num cromosoma com centrómero.

Este é um campo aberto à investigação. Nada objecta, quer-nos parecer, a que a aplicação experimental de qualquer agente mutagénico venha a suscitar o aparecimento de centrómeros localizados, em cromosomas desprovidos deles.

Mas então há que prever outra situação, a da mutação recíproca, operada em cromosomas ortodoxos, e induzindo a produção de cromonemata sem centrómeros. Raciocinando sobre este facto, pensando o que sucede aos fragmentos acêntricos que não têm viabilidade, como é sabido, podemos anunciar *a priori* que esses cromosomas se perderiam forçosamente. Em suma, não vemos razões para negar possibilidades de mutação, quer num sentido quer no outro. Tanto será possível realizar a mutação num cromonema sem zona centromérica especializada, criando o centrómero, como efectivar-se a mutação que leve uma zona especializada, de um cromonema normal no troço onde funciona o órgão centromérico, à sua suposta condição anterior, de

cromonema uniforme sem quaisquer diferenças em toda a extensão.

Perguntar-se-ia, então, porque motivo, nuns casos, os cromosomas desprovidos de centrómero, como os da *Luzula*, empreendem divisões normais, sem qualquer perda cromosómica, e no outro, bastaria esvair-se um centrómero para logo se verificar a perda do respectivo cromosoma.

Cremos que a razão resulta da própria diferença dos cromosomas. Se os cromosomas ortodoxos que se sujeitassem à mutação — desaparecimento do centrómero — fossem todos iguais em dimensões, e se em todos se dissipassem simultâneamente os centrómeros, naturalmente as coisas passar-se-iam como no caso da *Luzula*. Agora havendo uns com centrómero e outros sem ele é que são de esperar diferenças consideráveis na movimentação dos cromosomas. Julgamos que se chegar a ser possível, juntar numa mesma célula, cromosomas ortodoxos com outros sem centrómero localizado, os primeiros hão-de deslocar-se antes e com muito mais energia.

Nada sabemos, evidentemente, qual dos genes (para simplicidade de expressão chamemos-lhe assim, embora tenhamos a convicção de que a mutação verificada não se limita apenas a um gene) é o dominante e qual o recessivo, se o dominante é o que provoca o aparecimento do centrómero ou pelo contrário se o dominante é o tipo sem centrómero localizado.

É mais aceitável que a mutação se efectue do dominante para o recessivo. Por essa razão seríamos levados a supor que o dominante fosse justamente o tipo de cromosomas sem centrómero localizado. Entretanto, essa hipótese fica algo abalada com dois factos: 1) a quase universalidade dos cromosomas ortodoxos; 2) sabermos já que há nos cromosomas ortodoxos, dentro do centrómero, uma repetição invertida de cromómeros e fibrilas, por outras palavras, em linguagem genética, uma duplicação invertida; enfim, dois factos que parecem reclamar a dominância.

Em apoio, porém, daquela hipótese, pode citar-se a existência de cromosomas com dois centrómeros, referindo-nos

em especial ao caso dos T-cromosomas — como se têm chamado — e aos casos que porventura venham a surgir semelhantes ao que estudámos para o trigo (Sears e Camara, 1950). Dissemos atrás que todas as explicações propostas para o aparecimento do segundo centrómero por fenómenos de translocação não satisfazem; e por isso nos inclinamos para a produção de centrómeros secundários por mutação. Quer dizer, aceitámos a produção de um centrómero supranumerário, aliás de potencialidade variável, possível expressão de uma série alelomórfica, por fenómenos de mutação génica, provàvelmente acompanhada de pequenos rearranjos — como a constituição do centrómero determinada por Lima de Faria (1949) permite ajuizar — que ocorrem numa zona definida do cromonema. Parece que é, exactamente, o que pode ocorrer num cromonema destituído de centrómero — como o da *Luzula* — adquirindo por mutação um órgão centromérico. Sòmente, neste caso, em vez de se tratar de um centrómero secundário, como o julgado terminal dos T-cromosomas, ou subterminal dos dicêntricos, ele tomaria funções, por ser o primeiro a aparecer, de *primário*.

Se assim fosse continuaríamos a atribuir prioridade, na escala da evolução, aos cromosomas sem centrómero localizado.

CONCLUSÃO

Como acabámos de ver, em qualquer das três direcções seguidas para o estudo do centrómero, os nossos trabalhadores forneceram contribuições, sendo algumas delas extremamente valiosas. Suponho que não é optimismo exagerado acreditar que outros passos se dêem, porventura mais decididos, no aclaramento deste problema, um dos mais fascinadores do mecanismo cromosómico. Decerto, recorrendo a novos métodos de trabalho, ou aprofundando os já utilizados, se encontrarão mais elementos de apreciação para o conhecimento da estrutura e funcionamento do centrómero.

Cremos que há muito a esperar da observação directa do centrómero. A descoberta de Lima de Faria deve ser seguida

de sucessivas confirmações em outros materiais, e é muito natural que se venham a encontrar ainda condições de estudo mais propícias que as deparadas em *Secale cereale* e *Agapanthus umbellatus*. Também imaginamos que o horizonte aberto de TJIO e LEVAN, acerca da diferenciação dos corpos centroméricos, à custa da oxiquinoleina, deve ser largamente explorado. Parece que será igualmente interessante investigar a acção desta substância na meiose, como aliás já estes citologistas preconizaram.

A observação insistente de paquitenas, seguindo a técnica de LIMA DE FARIA, terá particular utilidade no caso dos T-cromosomas ou mesmo dos cromosomas dicêntricos, como o do trigo que tivemos ensejo de referir. É de supor que será muito curiosa a análise desses contrómeros secundários, supostos terminais ou provadamente reconhecidos como subterminais.

Também julgamos que seria vantajoso procurar juntar na mesma planta, por cruzamentos adequados, o maior número possível de cromosomas dicêntricos. Cremos que seria ainda sumamente interessante analisar o comportamento dos T-cromosomas do centeio em híbridos com trigo.

Com respeito aos dicêntricos do trigo não parece impossível criar indivíduos com dois dicêntricos e até talvez com mais.

Um aspecto que era conveniente estudar cuidadosamente, tanto nos T-cromosomas como nos dicêntricos do trigo, consistiria em verificar se os fragmentos cromosómicos só possuidores do centrómero secundário — destacados natural ou artificialmente dos segmentos cromosómicos portadores do centrómero primário, — evidenciam por esse facto a paralização das funções do centrómero supranumerário.

Como supomos que o centrómero secundário provém de uma mutação operada no cromonema, seria aconselhável tentar induzi-la, por qualquer meio mutagénico. Pensamos que todos que se têm dedicado a estudos de raios X ou de outras irradiações, bem como de gases tóxicos, não têm prestado grande atenção a esta possível consequência do tratamento, da produção de centrómeros secundários. De uma maneira

geral tem-se atribuído o aparecimento de cromosomas dicêntricos a simples fenómenos de translocação. Mas é muito natural — pelo que já sabemos — que alguns dos centrómeros sejam produzidos *de novo*. Não parece muito difícil poder apurar-se se é verdadeiro ou não este facto, voltando a irradiar com semelhante propósito material favorável.

Uma contagem dos centrómeros observados, no material tratado, logo daria uma indicação sobre os supranumerários que porventura se produzissem.

A observação directa dos centrómeros ainda pode ganhar recorrendo ao microscópio electrónico. Parece que em lugar de se intentar a observação da estrutura molecular dos cromosomas, como se tem feito até agora, seria mais fácil e mais vantajoso, para o estado actual dos nossos conhecimentos, a observação de zonas limitadas dos cromosomas, das mais pequenas dimensões, como podem ser os centrómeros. Conquanto as dificuldades sejam grandes não parece impossível vencê-las, senão no todo pelo menos em grande parte.

Quanto aos cromosomas sem centrómero localizado, que põem tantos problemas diante de nossos olhos, julgamos que um dos mais instantes é a análise de híbridos entre espécies dos vários termos poliplóides, tal como está a proceder Nordenskiöld. Julgamos que é indispensável adquirir um conhecimento tão perfeito quanto possível sobre essa suposta nova forma de poliplóidia. Isso dará a conhecer melhor o comportamento dos cromosomas sem centrómero localizado.

Sabendo-se que existe na *Luzula purpurea* um cromosoma com um troço terminal heterocromático (o cromosoma SAT), que é claramente visível nas paquitenas (Castro e Sampayo, 1950), importa agora averiguar se existem segmentos semelhantes nas espécies tetraplóides. Se a bipartição dos cromosomas fosse o método espontâneo da duplicação cromosómica, então as espécies tetraplóides só teriam um cromosoma SAT, mostrando o mesmo troço heterocromático que se vê na *L. purpurea*. Da mesma maneira a existência de *knobs* nos cromosomas das paquitenas das *Luzulas* 4n deverá ser bem definida para verificar se o seu número e localização permitem estabelecer quaisquer relações de afini-

dade com as espécies ocotoplóides, uma vez que os trabalhos já realizados parecem mostrar ser muito difícil estabelecer a homologia com a espécie diplóide.

Um dos passos mais interessantes a dar, num próximo futuro, será a tentativa da indução dos centrómeros nos cromosomas da *Luzula*. Se o raciocínio que temos seguido está certo — dos centrómeros resultarem de mutações — então depois de tratamentos mutagénicos devem observar-se nos cromosomas da *Luzula* esses centrómeros. Criados eles, os elementos cromosómicos devem evidenciar constrições. E é muito possível que, nesse caso, a substância matriz seja diferente. A nossa experiência, de tratamento dos cromosomas da *Luzula* com raios X, anima algumas esperanças nesse sentido, pois já conseguimos observar — embora nesses casos não se pudesse levar o exame mais longe — cromosomas ou fragmentos cromosómicos de constrição cefalobraquial.

Outra direcção de estudo, que nos parece cheia de interesse, é investigar se aquele suposto mecanismo regularizador das dimensões dos cromosomas sem centrómero localizado, a que atrás aludimos, se exerce nos híbridos que agrupam cromosomas de comprimentos diversos. Se porventura for possível manter esses cromosomas heteromórficos em formas viáveis, através de várias gerações, há que estudar a mecânica da sua mitose e meiose. Por certo elas serão alteradas; e, sendo-o, proporcionarão talvez mais condições de estudo para a movimentação dos cromosomas não ortodoxos e para a formação do fuso.

Naturalmente há muitos outros rumos a seguir na investigação dos cromosomas sem centrómero localizado. Se limitamos a referência a alguns aspectos é apenas para chamar as atenções sobre problemas que, em nosso critério, andam mais relacionados à questão do centrómero. Não queremos, porém, significar que não haja outros, ou que venham a surgir outros, de alta importância, para o esclarecimento dos assuntos relativos a cromosomas não ortodoxos.

BIBLIOGRAFIA

AUERBACH, C.

1947 Abnormal segregation after chemical treatment of *Drosophila*.
Genetics, **32** : 3-7.

BERGER, C. A.

1949 The cytology of *Luzula*.
Amer. Jour. Bot., **36** : 794.

CAMARA, A. e VASCONCELLOS, SARAH

1945 Não-disjunção provocada artificialmente com anidrido carbónico.
Brotéria, **XIV** (XLI) : 1-8.

CASTRO, D., CAMARA, A. e MALHEIROS, NYDIA

1949 X-rays in the centromere problem of *Luzula purpurea* Link.
Genética Ibérica, **1** : 48-54.

CASTRO, D.

1950 Notes on two cytological problems of the genus *Luzula* DC.
Comunicação apresentada à Reunião Internacional de Genética de Madrid.
Genética Ibérica. No prelo.

CASTRO, D. e MELLO SAMPAYO, T.

1950 Observações sobre *Luzula purpurea* Link.
Heterocromatina. Asinapsis.
Comunicação apresentada ao XX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências. Lisboa, 1950.

FERREIRA DE ALMEIDA, J. L. e MELLO SAMPAYO, T.

1950 Sobre a diferenciação nuclear nos micrósporos de *Luzula purpurea* Link.
Comunicação apresentada ao XX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências. Lisboa, 1950.
Bol. Soc. broteriana, Vol. **24** (2.ª Série). No prelo.

HUGHES-SCHRADER, SALLY

1931 A study of the chromosome cycle and the meiotic division-figure in *Llaveia bouvari* — a primitive coccid.
Zschr. Zellf. und mikr. Anatomie, **13** (4) : 742-769.

1943 Polarization, kinetochore movements, and bivalent structure in the meiosis of male mantids.
Biol. Bull, **85** (3) : 265-300.

HUGHES-SCHRADER, SALLY and RIS, H.

1941 The diffuse spindle attachment of coccids, verified by the mitotic behaviour of induced chromosome fragments. *J. Exp. Zool.*, **87** (3) : 429-451.

KATTERMANN, G.

1939 Ein neuer karyotyp bei Roggen. *Chromosoma*, **1** : 284-299.

LIMA DE FARIA, A.

1949 a The structure of the centromere of the chromosomes of rye. *Hereditas*, **35** : 77-85.

1949 b Genetics, origin and evolution of kinetochores. *Hereditas*, **35** : 422-444.

1950 The Feulgen test applied to centromeric chromomeres. *Hereditas*, **36** : 60-74.

MALHEIROS, NYDIA e CASTRO, D.

1947 Chromosome number and behaviour in *Luzula purpurea* Link. *Nature*, **160** : 156.

MALHEIROS, NYDIA, CASTRO, D. e CAMARA, A.

1947 Cromosomas sem centrómero localizado — o caso da *Luzula purpurea* Link. *Agronomia lusitana*, **9** : 51-74.

MALHEIROS, NYDIA e GARDÉ, A.

1947 Contribuições para o estudo citológico do género *Luzula* DC. *Agronomia lusitana*, **9** : 75-79.

MATSUURA, H.

1941 Chromosome studies in *Trillium kamtschaticum* Pall. XIII. *Cytologia*, **11** : 369-379.

MCCLINTOCK, BARBARA

1939 The behaviour in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. *Proc. Nat. Acad. Sci.-Wash.*, **25** : 405-416.

1941 The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genétics*, **26** : 234.

MELLO SAMPAYO, T., CASTRO, D. e MALHEIROS-GARDÉ, NYDIA

1950 Observações sobre a autotetraplóidia induzida pela colquicina na *Luzula purpurea* Link. *Comunicação apresentada ao XX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências.* Lisboa, 1950.

MOTTRAM, J. C.

1930 a Non-disjunction produced by carbon dioxide.
Nature, **125** : 275-276.

1930 b The effect of carbon dioxide on the occurrence of non-disjunction in *Drosophila.*
J. Exp. Biol., **7** : 370-372.

NAVASHIN, M.

1932 The dislocation hypothesis of evolution of chromosome numbers.
Zschr. ind. Abst. Vererb., **63** : 224-231.

NORDENSKIÖLD, H.

1949 The somatic chromosomes of some *Luzula* species.
Bot. Not., 81-92.

1950 Cyto-taxonomic studies in the Genus *Luzula.*
Comunicação apresentada ao VII Congresso Internacional de Botânica. Stockholm, 1950.

NORONHA WAGNER, M.

1949 Subsídio para o estudo citológico do género *Luzula* DC.
Genética Ibérica, **1** : 59-67.

ÖSTERGREN, G. and PRAKKEN, R.

1946 Behaviour on the spindle of the actively mobile chromosome ends of rye.
Hereditas, **32** : 473-494.

ÖSTERGREN, G.

1949 *Luzula* and the mechanism of chromosome movements.
Hereditas, **35** : 445-468.

PIZA, S. DE T. JR.

1939 Comportamento dos cromossômios na primeira divisão do espermatocito do *Tityus bahiensis.*
Scientia Genetica, **1** : 255-261.

1946 Comportamento dos cromossômios na meiose de *Euryophthalmus rufipennis* Laporte (Hemiptera-Pyrrhocoridae).
An. Esc. Sup. Agric. «Luís de Queirós», **3** : 27-54.

PRAKKEN, R. and MÜNTZING, A.

1942 A meiotic peculiarity in rye simulating a terminal centromere.
Hereditas, **28** : 441-481.

RHOADES, M. M. and VILKOMERSON, H.

1942 On the anaphase movement of chromosomes.
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., **28** : 433-436.

RHOADES, M. M. and KERR, W. E.

1949 A note on centromere organization.
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., **35**: 129-132.

RIBBANDS, C. R.

1940 Meiosis in Diptera I.
J. Genetics, **41**: 411-442.

SCHRADER, F.

1931 The chromosome cycle of *Protortonia primitiva* (Coccidae) and a consideration of the meiotic division apparatus in the male.
Zschr. Wiss. Zool., **138**: 385-408.

SEARS, E. R.

1946 Isochromosomes and telocentrics in *Triticum vulgare*.
Genetics, **31**: 229-230.

SEARS, E. R. e CAMARA, A.

1950 Cromosomas dicêntricos no Trigo.
Comunicação apresentada à Reunião Internacional de Genética de Madrid.
Genética Ibérica. No prelo.

TJIO, H. J. and LEVAN, A.

1950 a Quadruple structure of the centromere.
Nature, **165**: 368.

1950 b The use of oxiquinoleine in chromosome analysis.
An. Aula Dei, **2** (1): 21-64.

Sur la caryologie de l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss.

PAR

ALBERTO GARDÉ

(Estação Agronómica Nacional)

Au cours d'un travail cytologique que nous sommes en train d'effectuer, sur les Graminées du Portugal, nous avons trouvé une espèce méditerranéenne — *Airopsis tenella* (Cav.) Coss., — qui présentait une constitution diploïde de $2n = 8$ chromosomes.

En effet, jusqu'ici, le nombre somatique 8, assez rare dans les plantes, ne fut jamais trouvé dans cette nombreuse famille dont le nombre diploïde le plus bas est de 10. Nous ne connaissons, non plus, aucun multiple de 8. Cependant dans quelques métaphases observées, nous avons constaté que deux des chromosomes semblaient avoir, dans leur région moyenne, une intumescence ou irrégularité structurale qui suscitait des doutes au sujet du nombre trouvé.

S'agit-il d'une superposition accidentelle des extrémités des chromosomes, soudées ou non, ou d'un produit artificiel de la fixation? De multiples observations du matériel peuvent seules résoudre ces doutes. Nous devons donc attendre encore une année pour obtenir d'autres graines et en essayer d'étudier la mitose et la meiose, si possible.

Cependant LITARDIÈRE (1), dans sa publication de 1948,

---

(1) LITARDIÈRE
1948 Sur deux graminées (Avénées-Airopsidées) à nombre chromosomique de base égal a 4 : les *Airopsis tenella* (Cav.) Coss. et DR. et *Peribalia laevis* (Brot.) Asch. et Graebn.
Compte Rendu des séances de l'Académie des Sciences **227** : 1071-1072.

montre $2n = 8$ chromosomes pour l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss., ainsi que pour une espèce voisine — *Molineria laevis* (Brot.) Hack. Dans ce travail on ne trouve aucune photo ou dessin et seulement les chromosomes du type «festucoide» y sont indiqués. En conclusion, après comparaison avec les nombres diploïdes connus dans la famille des Graminées, il dit être convaincu que les espèces citées ont, phylogénétiquement, une formation assez récente.

Par l'observation d'autre matériel, nous pouvons maintenant confirmer le nombre indiqué par cet auteur pour l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss., c'est à dire, $2n = 8$.

Il fut possible en outre de dessiner quelques plaques métaphasiques et de faire la différenciation des types de chromosomes. Ainsi, sur les figs. 1, 2 et 3, nous pouvons observer clairement les constrictions de tous les éléments du complexe chromosomique; les quatres paires de chromosomes présentent chacune leur morphologie propre. Les types respectifs sont représentés sur la fig. 4:

Type A: une paire SAT de constriction primaire sous-moyenne et à long satellite.

Type B: une paire de chromosomes de constriction à peu près moyenne.

Type C: une troisième paire dont les bras présentent des longueurs dans une proportion de 2:1 environ.

Type D: une paire des plus petits chromosomes, céphalo-braquiaux et dont la tête est sensiblement sphérique.

S'il n'y avait pas l'extraordinaire petitesse des radicules et des feuilles primaires, et, par conséquent, des méristèmes respectifs, nous serions, sans doute, en possession d'un excellent matériel de travail. Cependant, il peut se faire que la meiose, qui n'a pas encore été suffisamment étudiée, nous révèle de meilleures applications pour cette plante, dans le domaine de la Cytogénétique.

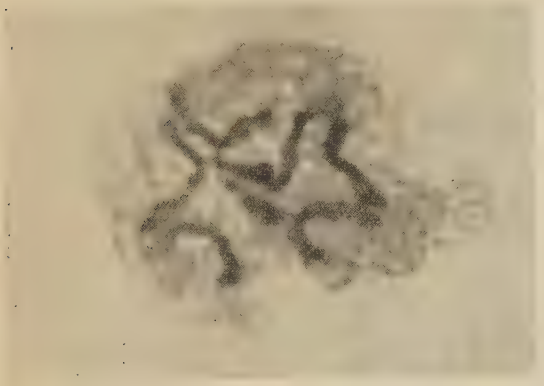


Fig. 1 — Photographie d'une métaphase somatique de *Airopsis tenella* (Cav.) Coss. 2 n = 8 chromosomes; orceïne-acétique. × 1800.

Fig. 2 — Interprétation des chromosomes de la fig. 1.

Fig 3 — Pro-métaphase avec les différents types de chromosomes bien marqués. × 1800.

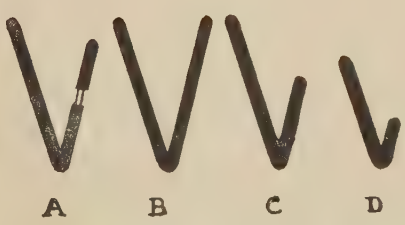


Fig. 4 — Idiogramme des chromosomes de l'espèce *Airopsis tenella* (Cav.) Coss.

Puisqu'il est possible de caractériser, avec précision, les différents types de chromosomes de l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss., nous devons espérer que la comparaison avec les autres *Aveneae,* et surtout, avec les espèces des genres voisins, permettra d'établir les liens de parenté qui les unissent.

Litardière admet que le nombre $2n = 8$ dérive de la fusion de deux paires de chromosomes d'une espèce à $2n = 10$. Cette hypothèse trouve un appui dans les anomalies que nous avons constatées et dont nous avons parlé. Nous devons toutefois nous rappeler, que le nombre chromosomique des espèces voisines de l'*Airopsis tenella* (Cav.) Coss., qui ont déjà été étudiées, est, presque toujours, de $2n = 14$. Espérons donc que le comptage d'un plus grand nombre d'espèces nous dira si l'hypothèse de Litardière est exacte ou si l'on doit chercher la provenance phylogénétique des espèces à $2n = 8$ dans les formes à $2n = 14$.

DATOS CURIOSOS EN LA OBSERVACIÓN DE UN MIXOMICETO

POR EL

P. J. PUJIULA

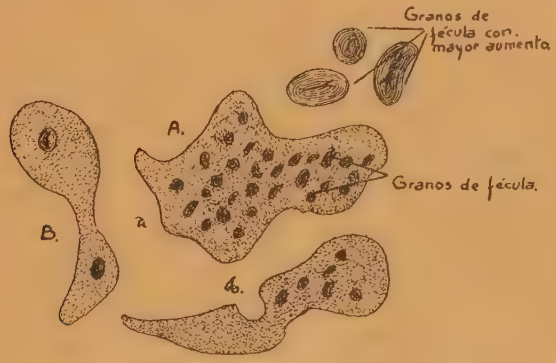
Director do Instituto Biológico de Sarriá (Barcelona)

Dijo CAJAL que la naturaleza se muestra a quien la busca, es decir, sucede con frecuencia que, buscando un científico una cosa, no halle lo que precisamente busca; pero descubre, en cambio, otras cosas, las cuales ni por pienso se le habían ocurrido. Los casos son casi sin número. Vamos a referir uno que nos aconteció a nosotros.

En un cultivo de varias semillas para fines científicos diversos, a que debían prestar el material, nos dimos cuenta de que en el tallito de una judía en germinación y en su penúltimo entrenudo se había formado una especie de anillo blanco que nos llamó la atención; y deseosos de saber lo que aquello podría ser, lo quitamos con los dedos; y ya que parecía una masa algo pastosa, tomamos una pequeña porción para examinarla con el microscopio. Bien pronto vimos que aquella masa era un mixomiceto que nos pareció ser el mixomiceto *Copromyxa protea* a juzgar por el aspecto que presentaba de masas amiboideas (figura), de formas muy variadas: en esferas, en cuerpos alargados, a veces de aspecto tal que parecían ir a estrangularse, en cuerpos lobulados, en germinación, etc.

Pero quizás nos sorprendió mucho más ver aquella masa sembrada de granos de fécula, de varios tamaños; algunos eran elípticos, mostrando en su interior una especie de cavidad ramificada que tantas veces hemos visto en los granos de fécula de las leguminosas. Su gran cantidad no podía menos de sorprendernos, ya que no estamos acostumbrados a ver fécula sino en el interior de los vegetales o en órganos

de reserva orgánica. En todo caso para cerciorarnos de que eran realmente granos de fécula, tratamos la masa del mixomiceto por el yoduro potásico yodado, que teñiría de azul los granos de fécula y de amarillo al mixomiceto, formado, al parecer, sólo por una masa protoplásmica. No nos equivocamos. El mixomiceto aparecía amarillo, pudiendo exhibir las notas características de una masa constituída casi exclusivamente por protoplasma con sus formaciones; mientras que la fécula apareció fuertemente teñida de azul. No había lugar a duda. También hicimos algún examen con el micros-



Esquema del mixomiceto sembrado de granos de fécula.
A. masa grande; B y b. masa estrangulándose.

copio polarizador con resultado positivo. Pero aquí comenzó nuestro problema: ¿de dónde aquella fécula? — No era concebible que alguien se hubiese entretenido en espolvorear aquella masa blanca que ni sabría lo que aquello podía ser. Por otro lado, es inadmisible que la planta hubiese expelido aquel hidrato de carbono en forma sólida. Al repetir el ensayo microscópico se confirmó la presencia de los granos de fécula con la misma reacción con el yoduro potásico yodado, y la reacción del mixomiceto. Con cuidado reservamos parte de aquel material del mixomiceto en vidrio de reloj y lo pusimos en la cámara húmeda macroscópica para poder conservarla, a ser posible, y repetir los ensayos. Pero poco a poco se fué deshaciendo el mixomiceto y ya no podimos ver con el microscopio más que una inundacion de

microsporas según parecia. Todo el problema, pues, está ahora en poder descifrar el origen o la génesis de los granos de fécula en la masa del mixomiceto.

Eliminada la posibilidad de que alguna mano extraña se hubiese puesto a sembrarlos allí, y dada asímismo la imposibilidad de haber salido de vegetal y de que los granos de fécula se hubiesen reproducido, ya que no son cosa viva sino sólo producto de la vida, no parece quede otro camino para explicarnos el hecho que la de admitir que el mixomiceto los puede producir. La fécula se produce, según los cálculos citológicos, por la acción de la clorofila, al menos respecto de los primeros estadios de la formación de hidratos de carbono, mediante acaso algún fermento para condensar la fécula líquida en sólida. La producción de fermento por el mixomiceto no ha de extrañar a nadie. Acaso tenga él leucoplastos o formaciones equivalentes para transformar la fécula líquida en sólida. En este caso se podría admitir que el mixomiceto atrae hacia fuera líquido del vegetal que podría contener fécula líquida, y sus fermentos o reactivos orgánicos podrían convertir en fécula sólida aquel líquido hidrocarbonado. De momento no nos ocurre otra explicación; y el publicar estos datos tiene también por objeto ver si alguien ha hecho ya parecidas observaciones y buscado medio de explicarlas científicamente. También puede esta publicación estimular para que outros busquen y hallen, a ser posible, lo que nosotros de momento no podemos solucionar, sino mediante hipótesis que exigen, desde luego, nuevas investigaciones para, primero, dar con semejantes formaciones y datos y, luego, con la solución que estos exigen, para poder pasar al archivo científico.

BIBLIOGRAFIA

ACCIAIUOLI, Luiz de Menezes Corrêa — **Bibliografia Hidrológica do Império Português.** 2 vols., 200×260 mm., XV×446, 438 págs. Lisboa, 1950.

O Sr. Engenheiro-Chefe da Inspecção de Águas, Luiz de Menezes Corrêa Acciaiuoli, da Academia das Ciências, apresenta-nos nestes dois volumes um verdadeiro monumento de paciente e minuciosa investigação. Neles encontramos a indicação bibliográfica não só de todos os trabalhos impressos ou manuscritos que se conhecem actualmente sobre as águas minerais de Portugal Continental, Insular ou Colonial, mas até das simples referências que se encontram acerca das mesmas nos Documentos Oficiais, nos Livros, Revistas ou Jornais.

A obra está dividida em duas partes. A primeira, de longe a mais extensa, é constituída pela relação onomástica, agrupada em sete Períodos. Em cada um destes foi adoptada a ordem alfabética; cada nome vai antecedido de um algarismo que serve para a consulta da segunda parte. O primeiro período, o mais pobre em documentos hidrológicos, como é natural, mas de extraordinário interesse, compreende a Época Luso-Romana, e vai até ao nascer da Nação Portuguesa. Transcrevem-se 18 inscrições encontradas nos Balneários da Época. Os outros Períodos referem-se aos séculos seguintes, em que os documentos hidrológicos vão aumentando cada vez mais em número e importância. Para a primeira metade do século XX, ainda não completa na ocasião da publicação da obra, encontro inventariados 3.241 trabalhos hidrológicos.

A segunda parte, muito menos extensa (vol. II, págs. 331-438) compreende a «Relação de Nascentes e de Assuntos» com a indicação dos números que lhes correspondem na primeira parte. É, pois, um simples índice sistemático desta.

Como se vê, a presente obra não é, por certo, um livro de leitura. Parece, à primeira vista, que poderia interessar só os hidrologistas. E contudo devo confessar que, não sendo hidrologista, passei horas a folhear estes dois volumes, página por página, não só com grande interesse, mas também com imenso proveito.

SAZ, Eugenio, S. J. — **Los Minerales, Su Reconocimiento sistemático.** 220×165 mm., 650 págs., 70 figs. «Editorial» Tip. Cat. Casals, Barcelona.

Eis um livro de alto valor científico e prático, que será recebido com muita estima por todos os que têm de se ocupar da determinação de minerais. Não se trata, é verdade, de mais um Curso de Mineralogia. Assim, não encontraremos nele senão raras vezes indicações sobre o modo de jazida dos Minerais, a sua distribuição geográfica, as suas apli-

cações industriais. O subtítulo aliás aponta-nos claramente o carácter da obra: *Los Minerales, Su Reconocimiento sistemático.*

O livro tem, pois, um fim essencialmente prático. Sem descurar os caracteres físicos, ópticos e cristalográficos, é principalmente pelos seus caracteres químicos que o P. Saz ensina aqui a reconhecer os Minerais. O Autor, Director do Laboratório de Análise Química do Instituto Químico de Sarriá (Barcelona) e com numerosas obras já publicadas, é um Químico consagrado, que todos conhecem. «Muitas vezes, escreve ele no Prólogo, fica o principiante perplexo, ao obervar a cor, o brilho, a forma cristalina e outras propriedades físicas, que são muito variáveis no mesmo mineral e são por outra parte muito semelhantes em minerais diferentes. Por isso, julguei útil escrever um livro que ensinasse a determinar os Minerais, principalmente pelo estudo das suas propriedades químicas, mais seguras e sempre uniformes; sem deixar, por isso, de se servir da observação das propriedades físicas, como complemento que ajude em muitos casos para distinguir entre si vários minerais.» É verdade que, para isso, é indispensável a análise qualitativa; «porém, neste livro, diz ainda o A., ensina-se ao amador a efectuar as reacções características de cada anião e catião por meios simples e reagentes correntes, de fácil aquisição, sem se recorrer muito a reagentes especiais que se não encontram tão vulgarmente. Quem desejar maiores esclarecimentos poderá consultar outra obra em dois tomos do mesmo Autor: *Análisis Químico Mineral,* da qual o presente livro forma de alguma maneira o vol. III.

A presente obra está dividida em quatro partes: A primeira (págs. 11-86) é um breve tratado de Mineralogia química prática e trata dos instrumentos e aparelhos necessários, reagentes, propriedades físicas, cristalográficas, geométricas e ópticas dos Minerais. Na segunda parte (págs. 89-129) expõe o A. as propriedades químicas dos Minerais e muito em particular os procedimentos usados para o reconhecimento dos mesmos. A terceira parte (págs. 133-347) é dedicada à Mineralogia sistemática e ao reconhecimento de cada um dos elementos que entram na composição química de cada mineral. Enfim, a quarta parte (págs. 351-614) contém chaves para a determinação dos Minerais, com a descrição dos métodos químicos mais adequados para o reconhecimento de cada um deles. Seguem-se os índices.

O Padre Saz deu-nos, pois, mais uma bela obra que honra a Ciência espanhola e em particular o já célebre Instituto Químico dos Padres Jesuítas de Sarriá.

NATIVIDADE, J. Vieira — **Subericultura.** Um vol. 180×250 mm., 387 págs., 41 figs., 79 ests. Ministério da Economia. Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas. Lisboa, 1950.

Portugal ocupa, como todos sabem, o primeiro lugar entre os países produtores da cortiça, colhendo no seu território mais de metade da produção mundial. E contudo poderia e deveria produzir muito mais. Vale

a pena registar aqui algumas frases do Engenheiro NATIVIDADE: «Nas condições tão frequentemente ingratas de solo e de clima do nosso País, o sobreiro é uma árvore preciosa. Nenhuma outra espécie florestal, que se lhe avantage ou pelo menos iguale em valimento, consegue vegetar em terras tão secas e tão pobres e em condições de clima tão adversas por vezes à vegetação lenhosa. Nenhuma outra árvore dá mais, exigindo tão pouco...» E, por outra parte, «extensões enormes, do Norte ao Sul de Portugal, e até agora pouco mais do que improdutivas, podem ser valorizadas pela subericultura. Confrange encontrar ainda, especialmente no Sul do Alentejo, áreas extensíssimas nos terrenos pobres do carbónico submetidas à cultura cerealífera mais primitiva, com poisios de oito e dez anos, e onde o sobreiro, nascido pelos acasos da disseminação natural, é exterminado pela relha da charrua ou destruído pelos gados. Terrenos pobríssimos das nossas serras, mas com aptidões florestais; charnecas de vegetação degradada que apenas proporcionam mesquinha pastagem; terras miseráveis de centeio em alcantilados serros, hoje fácil presa da erosão, podem ser ùtilmente revestidas pelo sobreiro. Areias graníticas e do plioceno, solos cascalhentos do mioceno do Sul do Tejo, onde em épocas recuadas vicejou opulenta a floresta de sobro, aguardam ainda hoje o regresso da nobre árvore que as protegia e fecundava». *(Introdução)*.

Além disso, torna-se necessário repovoar os sobreirais, aperfeiçoar as condições de cultura, impedir a exploração depredatória dos montados. Há, pois, muito que fazer para que Portugal continue a ocupar o seu posto de honra, hoje em dia, especialmente, quando países novos, como os Estados Unidos, o Japão e sobretudo a Rússia, fazem grandes esforços para cultivar o sobreiro nos seus próprios terrenos, com o fim de chegarem a produzir a cortiça necessária à sua indústria.

Se Portugal se descuidar neste ponto, corre a sua riqueza corticeira um gravíssimo perigo. Vem, pois, muito a propósito a obra publicada agora pelo Sr. Eng. VIEIRA NATIVIDADE. Muito se tem já escrito sobre a cultura do sobreiro em Portugal, mas faltava, creio eu, um livro de conjunto que nos informasse de todas as questões que dizem respeito ao sobreiro: características botânicas da planta, condições do ambiente, formação e propriedades da cortiça, técnica cultural, grangeio dos sobreirais, defesa do sobreiro contra os seus inimigos: doenças e pragas, legislação portuguesa de protecção, etc.

O sábio Director da Estação do Sobreiro em Alcobaça, o Sr. Eng. VIEIRA NATIVIDADE, melhor do que ninguém podia escrever este livro. Devem-lhe a homenagem da sua gratidão não só os que se interessam pela cultura do sobreiro, mas todos os que têm a peito o progresso económico de Portugal.

Não quero deixar de acrescentar que, até sob o ponto de vista da apresentação gráfica, o livro de VIEIRA NATIVIDADE atinge um grau de perfeição raramente igualado: papel, impressão e ilustrações (79 estam-

pas de página, sem contar as duas capas) rivalizam com o que há de melhor. As fotografias reproduzidas nas estampas são do Autor, as gravuras e a impressão são das Oficinas de Fotogravura de Marques Abreu, do Porto.

FOLQUE, NUNO A. P. DE BASTO — **Subsídios para o estudo do género *Trifolium* L. em Portugal.** Separata de *Melhoramento*. Vol. I, t. II, 120 págs., 23 Ests. 1949.

O Autor dá, modestamente, o título de *Subsídios* ao seu trabalho; é, porém, uma valiosa Monografia que ele escreveu sobre o género *Trifolium* em Portugal. Além dos exemplares colhidos por ele mesmo, teve o A. à sua disposição os conservados nos Herbários da Universidade de Lisboa, do Instituto Superior de Agronomia, da Estação Agronómica Nacional e da Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas. O A. descreve minuciosamente as espécies contidas nesses herbários, as várias formas que algumas delas apresentam, as localidades onde foram colhidas, o valor agrícola de cada uma, etc.

Trinta e seis espécies portuguesas foram assim descritas e distribuídas pelos dois subgéneros *Trifoliastrum* e *Lagopus* admitidos por ENGLER, com as suas secções e subsecções. No subgénero *Lagopus*, com o fim de evitar uma excessiva subdivisão em séries e subséries, fez o A. algumas simplificações, aproximando-se mais da disposição seguida por ROUY.

Quatro espécies citadas por PEREIRA COUTINHO não puderam ser incluídas neste trabalho, por falta de exemplares nos Herbários observados: *T. Bonannii* Presl. var. *aragonensis* Wk. (SAMPAIO atribui esta variedade a *T. fragiferum* L.), *T. parvifiorum* Ehrh., *T. alexandrinum* S. (estas duas espécies foram também omitidas por SAMPAIO) e *T. leucanthum* M. B., dos arredores de Bragança e que PEREIRA COUTINHO também não viu.

Farei ainda as observações seguintes, só para mostrar o interesse com que percorri a obra do Sr. Eng. FOLQUE. Na Bibliografia encontro a citação do *Manual da Flora Portuguesa*, Porto, 1911 e as *Adições e Correcções à Flora Portuguesa* (1931) de G. SAMPAIO, mas não se faz menção da *Flora Portuguesa* do mesmo Autor, obra póstuma completada pelo Sr. Dr. ROZEIRA e publicada sob a direcção do Sr. Prof. PIRES DE LIMA.

Acho igualmente a indicação de MERINO: *Flora de Galicia* (1905). Creio que é preciso corrigir e completar esta indicação. O P. MERINO publicou uma *Flora descriptiva e ilustrada de Galicia* em três tomos impressos respectivamente em 1905, 1906 e 1909, com um volume de *Adiciones* publicado na *Brotéria* em 1917. O género *Trifolium* vem, principalmente, estudado no vol. I, mas encontram-se importantes aditamentos no vol. III e nas *Adiciones*. Foi pena que o A. não pudesse consultar os herbários das Universidades de Coimbra e do Porto.

Direi, finalmente, que faz imensa falta na monografia do Sr. Eng. FOLQUE um Índice alfabético das espécies descritas.

TAVARES, C. M. AND I. M. TAVARES — **Hepatological Notes.** Separata da *Revista da Faculdade de Ciências de Lisboa,* 2.ª Série, Ciênc. Natur., págs. 109-116.

Duas espécies novas para a nossa flora: *Barbilophozia Hatcheri* (Evans) Loeske, colhido perto da Lagoa Comprida, na Serra da Estrela e *Porella Cordaeana* (Bub.) Evans, Serra da Estrela, Loriga. Por outra parte, devem riscar-se da lista das Hepáticas portuguesas as três espécies seguintes: *Gymnomitrium corallioides* Nees, *Gymnomitrium varia* (Lindb.) Schiffn. e *Riccardia palmata* (Hedw.) Carr. Os exemplares que foram atribuídos a essas espécies pertencem na realidade, respectivamente a *G. obtusum* (Lindb.) Pers, *Marsupella Funckii* (Web. et Mohr.) Dum., espécie nova para Portugal, e *Riccardia bifida* (L.) Gray.

SILVA, ALFREDO ANDRADE DA — **Estudo de um Depósito Diatomífero de Carvalhal.** Publicações do Inst. de Bot. «Dr. Gonçalo Sampaio» da Fac. de Ciênc. da Univ. do Porto. 10 págs. Porto, 1949.

Resumo do Autor: Trata-se do estudo de um depósito de Diatomáceas fósseis existentes em Carvalhal. Neste depósito encontram-se quase exclusivamente espécies pertencentes às *Centrales,* predominando o género *Melosira.* Das *Pennales* que são em número muito reduzido, estão muito fracamente representados os géneros *Pinnularia, Cymbella, Eunotia* e *Epithemia.*

TAVARES, CARLOS DAS NEVES — **Liquenes da Serra do Gerês.** Separata de *Portugaliae Acta Biologica.* Vol. 3.º, fascs. 1-2, págs. 1-180. 1950.

Este trabalho é uma das mais importantes contribuições para o conhecimento da Liquenologia portuguesa. A elaboração de floras regionais parece-me ser um dos meios mais conducentes para o conhecimento perfeito da nossa flora.

O A. teve à sua disposição, além do seu herbário particular, as colecções das três Universidades, em particular as belas colheitas do grande botânico Prof. Dr. GONÇALO SAMPAIO.

Depois de um rápido esboço de Fisiografia e Litologia, Clima e Vegetação da Serra do Gerês, o A. faz uma resenha dos trabalhos publicados actualmente sobre a flora dessa região e por fim dá-nos o Catálogo das espécies conhecidas até aqui, com interessantes dados sobre a distribuição de cada uma, a data da sua descoberta, etc. As espécies não vêm numeradas, mas contei 293. Oito espécies ou variedades são descritas como novas para a Ciência; são as seguintes:

Gyalecta subsphaeroides C. Tav. Caldas.
Leptogium juressianum C. Tav. Entre a Pedra Bela e as Caldas.
Pannaria Sampaiana C. Tav. Em várias localidades. Afim da *Pannaria pityrea* (D. C.) Deg.

Lecidea perlata H. Magn. var. *juressi* C. Tav. n. var. Altar dos Coimbrões.

Lecidea (Biatora) atrofusca C. Tav. var. *roburicola* C. Tav. n. var.

Lecidea (Psora) coacervata C. Tav. Chã da Fonte, próxima da *L. fuliginosa* Tayl.

Lecanora (Aspicilia) Broteriana C. Tav. Em vários pontos da Serra.

Buellia disciformis (Fr.) Mudd. var. *inspersa* C. Tav. n. var. Sobre *Sorbus Ancuparia,* na Pedra Bela.

Várias outras espécies, variedades e formas são novas para a Flora portuguesa.

BRAGA, José M. — **Un Bathynellidae (Crust.) Syncarida du Portugal (*Parabathinella lusitanica* n. sp.).** Publicações do Inst. de Zool. «Dr. Augusto Nobre». 15 págs., 7 figs. Porto, 1949.

Esta espécie, a primeira da família *Bathynellidae* é nova para a Ciência; foi encontrada num poço escuro, no solo granítico de Leça da Palmeira, perto do Porto. Esta descoberta é duplamente interessante, pois os Bathynellidae são animais raros de que se conhecem apenas uma meia dúzia de espécies no mundo inteiro, o género *Parabathynella* é ainda pouco conhecido e a sua posição sistemática ainda mal definida. A distribuição geográfica das espécies deste género, cujos representantes habitam a Sérvia oriental e o Estado malaio de Selangor, e agora o Portugal, mostra a grande antiguidade do género e faz supor que pela exploração das águas subterrâneas novas colheitas poderão ser feitas nas regiões intermediárias.

Revistas da Casa Junk, da Haya (Holanda)

Vegetatio. ***Acta Geobotanica.*** Organe Officiel de l'Association Internationale de Phytosociologie. Vol. II, fascs. 4-5 (24-X-1950), págs. 239-264; fasc. 6 (15-XII-1950), págs. 365-410.

Trabalhos de alto valor fitogeográfico contêm, como os anteriores, estes fascículos:

K. H. Rechinger (Viena) — **Grundzüge der Pflanzenverbreitung in der Aegais.** II (mit 15 Karten und VIII Tabellen, págs. 239-308); III (mit 5 Karten), págs. 365-386.

O Dr. Rechinger continua a publicação do seu estudo sobre a flora das Ilhas do Mar Egeu. A segunda parte é toda consagrada ao estudo dos endemismos. Essa região é extraordinàriamente rica em formas endémicas, especialmente as ilhas do sul e entre elas ainda mais a Ilha de Creta. Esta possui, por sua conta, 2 géneros, 139 espécies e 18 subespécies

e formas endémicas próprias, sem contar outras que se encontram também em outras ilhas.

O A. passa em revista todos esses endemismos, distribuídos pelas várias regiões que integram o Arquipélago. O estudo do Dr. RECHINGER termina no fascículo 6.

J. J. BARKMAN (Leiden) — **Le *Fabronietum pusillae* et quelques autres Associations Épiphytiques du Tessin (Suisse méridionale)** avec 6 tableaux (with a Summary in English). Fasc. 4-6, págs. 309-330.

Os estudos de Briogeografia segundo os métodos modernos são ainda raros. É, por isso, de muito especial interesse o que publica agora J. J. B. BARKMAN sobre as associações epifíticas do Cantão do Tessino.

Já em 1933 tinha JÄGGLI publicado um trabalho importante sobre o mesmo assunto. Não é contudo menos interessante o de BARKMAN, que segue mais fielmente o método de BRAUN-BLANQUET. O A. distingue no Tessino as seguintes associações: *Fabronietum pusillae* Ochs., *Syntrichietum laevipilae* Ochs., *Anomodonteto-Leucodontetum* Wisn. (com alguma dúvida) e *Mnietum cuspidati* Felf. O *Fabronietum pusillae* é a associação que domina.

R. SCHNELL — **Etat actuel des recherches sur la Végétation de l'Afrique Intertropicale Française.** Págs. 331-340.

Especialmente digna de atenção é a extensa Bibliografia dos trabalhos existentes sobre a Vegetação da África Equatorial.

BRAUN-BLANQUET — **Übersicht der Pflanzengesellschaften Rätiens.** VI (mit 4 Tafeln), págs. 341-360.

É o fim deste importante trabalho de Sociologia Vegetal do grande Mestre.

F. FIRBAS — **Die IX International Pflanzengeographische Excursion durch Irland.** Págs. 361-364.

É o relatório da nona Excursão Internacional de Geografia Botânica que se realizou através da Irlanda de 8 a 25 de Julho de 1950. Tomaram nela parte 24 excursionistas pertencentes a 14 países diferentes.

M. ZOHARY (Jerusalem) — **The Segetal Plant Communities of Palestine** (with 1 fig., 1 map und 6 tables). Fasc. 6, págs. 387-411.

Este estudo do Prof. ZOHARY, da Universidade Judaica de Jerusalém, oferece um interesse especial, porque, como nota o A., os países do Mediterrâneo Oriental estão modernizando os seus métodos agrícolas, de sorte que a vegetação espontânea das terras cultivadas, tão antiga como a própria agricultura, pode de repente sofrer modificações radicais; urge, pois, dá-la a conhecer emquanto é tempo.

Hydrobiologia. ***Acta Hydrobiologica, Limnologica et Protistologica.*** —Vol. II, n.º 4, 16-XI-1950, págs. 301-405.

Eis o Índice dos trabalhos contidos neste fascículo:

K. LINDBERG — **Liste des Cyclopoides gnathostomes (Crustacés copépodes) des Iles Britanniques et de l'Irlande.** Págs. 301-312. Sessenta espécies indicadas.

ANKER NIELSEN (Copenhague) — **On the Zoogeography of Springs.** Págs. 313-321, com 6 estampas.

As considerações consignadas neste trabalho são o fruto de vários anos de observações efectuadas nas grandes nascentes do Norte da Jutlândia. Termina com um interessante quadro dos climas sucessivos que reinaram na Dinamarca, desde o último período glaciar até aos tempos actuais.

P. VAN OYE et A. GILLARD — **Contribution à la connaissance de la distribution géographique de quelques Chlorophycées en Belgique.** Págs. 322-355, com 5 cartas e 13 gráficos.

Os AA. tratam da distribuição ecológica e biogeográfica de 15 espécies de Clorofíceas e examinam alguns dos factores que regulam a distribuição das espécies estudadas, em particular do pH.

A. MIDDELHOEK — **New observations on a species of the genus *Bicosoeca*.** Com uma estampa.

CAESER R. BOETTGER — **Ein Beitrag zur Frage des Ertragens von Brackwasser durch Molluskenpopulation.** Págs. 360-379, com 10 figs.

As águas salobras, em que as proporções de água doce e de água do mar são sumamente variáveis só podem ser habitadas por determinados animais. É o estudo das colónias de moluscos que povoam as costas do SW. da Pomerânia (Báltico), que o A. expõe neste artigo.

Personalia — **August Krogh — In Memoriam.** Págs. 380-382, com um retrato.

Notícia necrológica do bem conhecido Professor de Zoofisiologia da Universidade de Copenhague.

Charles Atwood Kofold († 1865-1947) — Notícia necronológica do afamado Protistólogo.

NEWS — Notícias sobre a instalação do laboratório que a Universidade de Copenhague fundou em Hillered, a 35 quilómetros dessa cidade, para o estudo da biologia da água doce.

Bibliography. Págs. 387-405.

A. LUISIER.

Condições de assinatura

Portugal, Império Colonial e Brasil: Série de Ciências Naturais, 60$00; Série de Cultura Geral, 60$00. As duas Séries conjuntamente, 140$00. O pagamento pode fazer-se em duas prestações. Aos assinantes que não satisfizerem directamente a sua assinatura por todo o mês de Janeiro ou por todo o mês de Junho (2.ª prestação), ser-lhes-á remetido o recibo à cobrança, acrescido das respectivas despesas.

Espanha: Série de Ciências Naturais, 45 pesetas. Série de Cultura Geral, 70 pesetas. As duas Séries conjuntamente, 110 pesetas.

Outros países: Série de Ciências Naturais, 75$00. Série de Cultura Geral, 110$00.

Agentes obsequiosos da BROTÉRIA

Angola: *Manuel Bento Ribeiro* — Banco de Angola, Luanda.

Brasil: *P.e João Ferreira Rodrigues* — Colégio António Vieira, Bahia.

Espanha: Administrador de *Razón y Fé*, Pablo Aranda, 3, Madrid.

Assinantes beneméritos da BROTÉRIA (*)

D. Joaquim Rodrigues Lima, Arcebispo de Bombaim.
Sr. Francisco Tavares Proença, Castelo Branco.
Sr. Dr. Júlio de Melo e Matos, Porto.
Sr. Tito Lívio Lopes, Porto.
Sr. Dr. Sebastião dos Santos Pereira Vasconcelos, Porto.
Sr. Dr. José de Almeida Eusébio, Covilhã.
Sr.ª D. Amélia Capelo Franco, Capinha (Beira Baixa).
Sr. Dr. José Pequito Rebelo, Gavião (Alentejo). Especial benfeitor da *Brotéria*.
Sr. Bento de Morais Sarmento, Porto.
Sr. José da Fonseca Castel-Branco, Póvoa de Rio de Moinhos (Beira Baixa).
Sr. Dr. Gustavo Mathieu Snoeck, Bahia (Brasil).
Sr. Dr. Sebastião do Rosário Sarafana, Figueira da Foz.
Rev.º P.e Simon Tang, Schiu-Hing (Canton, China).
Sr. Dr. António J. de Almeida Coutinho e Lemos Ferreira, Porto.
Sr. Dr. José J. Andrade Albuquerque de Bettencourt, Ponta Delgada.
Sr. Dr. Nuno de Lacerda Ravasco, Moura (Alentejo).
Sr. Dr. Manuel Antunes Barradas, Vila Pery (Moçambique).
Rev.º P.e Torquato Cabral Ribeiro, Colégio, Caldas da Saúde (Minho).
Rev.º P.e Camilo Torrend, Bahia (Brasil).
Rev.º P.e Francisco José Galvão, Braga.
Sr. José Maria de Proença de Almeida Garrett, Castelo Branco.
Sr. José Maria Ferreira Delgado, Vila Franca de Xira.
Sr. Dr. Domingos Megre, Aguas (Beira Baixa).
Sr. António Augusto Nogueira da Silva, Porto.
Sr. José Coimbra Pacheco, Casa «Pafil», Porto.
D. João de Deus Ramalho, Bispo de Macau.
Sr. Dr. Alberto Martins, S. Paulo (Brasil).
Sr. Óscar César Santos Matos, Rio de Janeiro (Brasil).
Srs. Condes de Almoster, Cascais.
Sr. José Peixoto de Almeida, Nogueiró (Braga).
Sr.ª D. Maria Augusta Vieira, Barcelos.
Sr. João Duarte, Barcelos.

(*) São **beneméritos** da **BROTÉRIA** os assinantes que contribuem com uma ou mais prestações, no espaço de um ano, no valor de 5.000$00; tem jus a ser o seu nome publicado para **sempre**, em todos os fascículos desta Revista, e a receber a **BROTÉRIA**, sem mais pagamento, durante a sua vida.

En vente à l'Administration de Brotéria

Caixa Postal, 364 — LISBONNE (Portugal)

TAVARES (J. DA SILVA):

Quelques Cécidies du Centre de la France	5$00
Cecidia Nova, seu quae hucusque in Peninsula Ibérica non innotuerunt, 56 págs.	10$00
Cynipidae Peninsulae Ibericae, 2 vols., 448 págs,. 9 tabs., 119 figs.	70$00